# Über einige Beziehungen zwischen anorganischen Stickstoffsalzen und der Pflanze.

Von Dr. **Hans Molisch,**
*Privatdocenten an der k. k. Wiener Universität.*

(Arbeiten des pflanzenphysiologischen Institutes der k. k. Wiener Universität XXXVI.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 5. Mai 1887.)

Die im Boden vorkommenden Nitrate, Nitrite und Ammoniaksalze gehören zu den werthvollsten Nahrungsmitteln der Pflanze, denn sie bedeuten für die meisten Gewächse die Hauptquelle, aus welcher der Stickstoff zur Ernährung entnommen wird.

Bei der ausserordentlichen Wichtigkeit dieser Stickstoffsalze für die ganze Entwicklung einer Pflanze muss es wohl sehr befremden, dass manche ziemlich einfache und naheliegende Beziehungen zwischen den genannten Stickstoffsalzen und der Pflanze entweder noch völlig unbekannt geblieben oder nur unvollständig klar gestellt sind: wir wissen, um nur auf einige Lücken hinzuweisen, auf Grund der bisherigen Untersuchungen nicht mit Sicherheit anzugeben, ob Nitrite in der Pflanze vorkommen, wir wissen nicht, welche Wandlungen die salpetrige Säure und das Ammoniak nach ihrem Eintritte in die Pflanze erfahren, ob dieselben hier, bevor sie zum Aufbau complicirter Stickstoffverbindungen (Eiweiss, Amidosäuren etc.) herangezogen werden, erst eine Oxydation zu Salpetersäure durchzumachen haben oder nicht. Desgleichen sind die in letzter Zeit von Berthelot und André[1] gemachten Angaben über die Entstehung des Salpeters in der Pflanze einer Nachprüfung werth und ebenso

[1] Sur la formation du salpêtre dans les végétaux. Comptes rendus de l'Academie etc. Paris 1884, T. XCVIII und T. XCIX.

die bisherigen Versuche, die Gegenwart von Nitraten und Nitriten im Gewebe der Pflanze zu erweisen, einer nachträglichen, ergänzenden Untersuchung bedürftig.

Alle die angedeuteten Fragen und eine Reihe von anderen müssen gelöst werden, wenn die ersten Veränderungen, welche die aufgenommenen mineralischen Stickstoffsalze in den pflanzlichen Geweben erleiden, erkannt werden sollen. Sind diese Fragen beantwortet, dann ist eine wichtige Vorarbeit gelöst und der erste Schritt zu einer genauen Kenntniss jener Stoffwandlungen gemacht, welche mit der Aufnahme des Stickstoffsalzes beginnen und mit dem Aufbau von Eiweiss enden.

## I.
## Über Vorkommen und Nachweis von Nitraten und Nitriten in der Pflanze.

Vor etwa vier Jahren habe ich das von den Chemikern zur Auffindung von Nitraten und Nitriten im Brunnenwasser angewandte Diphenylamin und Brucin in die Histochemie eingeführt, um die genannten Stickstoffverbindungen direct in der Pflanze nachzuweisen. [1]

Von diesen beiden Reagentien hat sich ganz besonders das Diphenylamin seiner grossen Empfindlichkeit für Salpetersäure und salpetrige Säure wegen trefflich bewährt, im Gegensatz zum Brucin, welches, wie ich schon seinerzeit betonte, minder gute Dienste leistet.

Die Art und Weise der Bereitung des Diphenylaminreagens, die Ausführung und der Verlauf der Reaction in Pflanzenschnitten wurde von mir schon früher an anderen Orten genau angegeben, weshalb ich einfach darauf verweise. Hier sei nur darauf hingewiesen, dass mit Hilfe des Diphenylamins Salpeter in fast allen geprüften krautigen phanerogamen und kryptogamen Pflanzen nachgewiesen werden konnte, dass namentlich die Vertreter der Ruderalflora sich als ungemein salpeterreich, als wahre „Salpeterpflanzen“ zu erkennen gaben, und dass schliesslich die Nitrate sich vorzugsweise im Mark und Parenchym des Stengels in

[1] Über den mikrochemischen Nachweis von Nitraten und Nitriten in der Pflanze mittelst Diphenylamin oder Brucin. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1883, Bd. I, S. 150 u. s. w.

grösster Menge vorfanden; in den unteren Stengeltheilen jedoch im Allgemeinen in grösserer Menge als in den oberen.

Bei der Untersuchung der verschiedensten Pflanzen zeigten die Holzgewächse insoferne ein eigenthümliches Verhalten, als ihre Stengel die Reaction mit Diphenylamin nicht gaben. Ich glaubte daraus auf den Mangel von Salpeter in den Holzgewächsen schliessen zu können. Dieser Schluss war jedoch nicht berechtigt, da, wie ich mich durch nachträgliche Untersuchungen überzeugte, durch die Gegenwart grösserer Mengen von Holzsubstanz, beziehungsweise der daraus unter dem Einflusse von Schwefelsäure[1] rasch entstehenden Huminkörper die Reaction verhindert wird.

Imprägnirt man einen Fichtenspahn oder irgend einen Querschnitt eines Baumzweiges mit einer verd. Salpeterlösung, welche für sich allein die Reaction mit Diphenylamin prompt gibt, und tropft man hierauf Diphenylamin darauf, so färbt sich der Schnitt braunschwarz, aber nicht blau. Und doch ist Salpeter vorhanden. Reagirt man dagegen auf ein salpeterhältiges, unverholztes Parenchym, so erhält man deutliche und schöne Blaufärbung. Im ersteren Falle liegen viele verholzte Zellwände vor, der Holzstoff gibt im Contacte mit concentrirter Schwefelsäure sofort Huminsubstanzen und diese verhindern die Reaction.

In einem Querschnitte durch einen krautigen Stengel (*Urtica*, *Amarantus*, *Capsella* etc.) kommen namentlich im Xylem wohl auch verholzte Zellen vor, allein diese treten gegenüber der überwiegenden Masse unverholzter, salpeterführender Parenchymzellen so sehr zurück, dass eben nur kleine Mengen von Huminsubstanzen gebildet werden, welche die Reaction nicht sehr beeinträchtigen können. Ich habe mich durch besondere Versuche von der hemmenden Einwirkung der Huminkörper auf unsere Reaction überzeugt. Erzeugt man sich solche aus krystallisirtem Rohrzucker mittelst $SO_4H_2$ und fügt man etwas davon einer verdünnten Salpeterlösung bei, so gelingt mit dieser die Reaction nur schwach oder gar nicht. Eingetretene Blaufärbung kann sogar durch Schütteln mit Huminkörpern zum Verschwinden gebracht werden. All diess erscheint begreiflich, wenn man bedenkt, dass

---

[1] Das Diphenylamin kommt nämlich in dieser Säure gelöst zur Anwendung.

den Huminkörpern reducirende Eigenschaften zukommen, der blaue, bei der Diphenylamin-Salpeterreaction entstehende Körper aber ein Oxydationsproduct ist.[1]

Will man sich trotzdem überzeugen, ob Nitrate in den Zweigen von Holzgewächsen auftreten, dann empfiehlt es sich, von einem etwa 10 Ctm. langen Zweigstück Rinde und Mark zu isoliren, beide in einer Schale mit wenig Wasser zu verreiben, das Extract zu filtriren, auf dem Wasserbad bis auf ein paar Tropfen einzuengen und hierauf nach vollständiger Abkühlung etwa ebenso viel Diphenylaminlösung als Flüssigkeit vorhanden ist, hinzuzusetzen.

In der beschriebenen Weise wurden Zweige verschiedener Holzgewächse im Monate März, also noch im unbelaubten Zustande, auf ihren Salpetergehalt geprüft und zwar mit folgendem Resultate:

| | |
|---|---|
| *Fraxinus excelsior* | gab eine Spur der Reaction, |
| *Sambucus nigra* | " " " " " |
| *Philadelphus coronarius* | " " " " " |
| *Acer Negundo* | " " " " " |
| *Populus nigra* | " " " " " |
| *Lonicera* sp. | " " " " " |
| *Syringa vulgaris* | gab keine Reaction, |
| *Ligustrum vulgare* | " " " |
| *Corylus Avellana* | " " " |
| *Salix daphnoides* | " " " |

Unter den untersuchten Zweigen gaben die einen schwache Reaction, mithin ein positives Resultat, die anderen ein negatives. Es darf jedoch nicht verschwiegen werden, dass selbst in das filtrirte Extract mitunter soviel von organischer, leicht in Huminkörper überzuführender Substanz mitgeht, dass hiedurch die

[1] Abgesehen von Salpetersäure und salpetriger Säure geben noch andere stark oxydirende Körper mit Diphenylamin Blaufärbung z. B. Eisenchlorid, Kaliumpermanganat und Chromsäure. In der Pflanze kommen jedoch, mit Ausnahme der Salpetersäure, so stark oxydirende Substanzen nicht vor, weshalb wir die in den vegetabilischen Geweben durch Diphenylamin hervorgerufene Blaufärbung beruhigt auf Salpetersäure zurückführen können. Auch von salpetriger Säure kann man absehen, da, wie ich zeigen werde, diese in keiner der vielen geprüften Pflanzen aufgefunden werden konnte.

Reaction zweifelsohne behindert wird. Aus einem negativen Befund darf also auch hier noch nicht auf die Abwesenheit von Salpeter geschlossen werden.

Mit Rücksicht auf die Thatsache, dass man durch Hinzufügen einer geringen Spur von Salpeter zu dem Extract deutliche Blaufärbung hervorrufen kann, zumal wenn der Schwefelsäure durch Vermeidung jedes Schüttelns nicht sehr viel Berührungspunkte mit der organischen Substanz geboten werden, folgt aus den gemachten Beobachtungen jedenfalls das Eine mit Bestimmtheit dass im Allgemeinen die Menge des Salpeters, wenn derselbe überhaupt vorhanden, in Holzzweigen im Gegensatze zu zahlreichen einjährigen Gewächsen eine geringe ist.[1]

Worin der Grund für dieses verschiedene Verhalten ein- und vieljähriger Gewächse liegen mag, darüber habe ich schon früher[2] eine bestimmte Vermuthung geäussert, indem ich sagte: „Wenn man erwägt, dass die obersten Schichten des Bodens vorzüglich Nitrate enthalten, und dass diese in den tieferen zu Nitriten und diese schliesslich in noch tiefer gelegenen Bodenschichten zu Ammoniak reducirt werden, so erscheint es nicht unwahrscheinlich, dass die Bäume deshalb keinen (oder nur geringen) Salpetergehalt aufweisen, weil diese mit ihren tiefgehenden Wurzeln zumeist nur Ammoniakverbindungen, aber keine Nitrate vorfinden".

---

Das Eintreten einer Blaufärbung in Pflanzenschnitten nach Behandlung mit Diphenylamin könnte entweder von Nitraten oder von Nitriten oder von beiden zugleich herrühren. Ein positives Ergebniss mit unserem Reagens lässt also vollständig unentschieden, ob das eine oder das andere oder ob beides vorhanden ist. Es wäre jedoch in vielen Fällen z. B. bei der Frage, ob Nitrite überhaupt in der Pflanze vorkommen oder ob dieselben in Nitrate übergehen oder aus den letzteren entstehen können, von Wichtigkeit, Mittel zum Nachweis der salpetrigen Säure in der

[1] Für nur geringe Mengen Salpeters in Holzgewächsen sprechen auch Beobachtungen von Monteverde. Vergl. darüber meine bereits citirte Abhandlung, S. 154.

[2] l. c. S. 154.

Pflanze zu besitzen. Die ersten Versuche, Nitrite in Pflanzen zu constatiren, rühren meines Wissens von Schönbein her.[1]

Ihm verdanken wir die Kenntniss der sehr interessanten Thatsache, dass angesäuerter Jodkaliumstärkekleister von vielen Pflanzensäften sofort mehr minder gebläut wird. Der genannte Autor hielt ursprünglich Nitrite für die Ursache der Bläuung, später gab er jedoch diese Ansicht auf und schrieb dem im Pflanzenzensafte vorhandenen activen Sauerstoff die bläuende Wirkung zu.

Da Schönbein's Beobachtungen über das angebliche Vorkommen von Nitriten in der Pflanze ganz in Vergessenheit gerathen zu sein scheinen, halte ich es für passend, aus dessen Abhandlung[2] Folgendes wörtlich anzuführen: „Unter allen von mir bis jetzt untersuchten Pflanzen zeichnet sich das *Leontodon taraxacum* durch seinen Nitritgehalt ganz besonders aus, weshalb auch von ihm zuerst die Rede sein soll. Ein Gewichtstheil der frisch gepflückten und zerquetschten Blätter dieser Pflanze mit 100 Theilen reinen Wassers zusammengerührt ertheilt dieser Flüssigkeit die Eigenschaft, durch schwach mit Schwefelsäure angesäuerten Jodkaliumkleister sofort auf das Tiefste gebläut zu werden. Auch die frischen Blätter von *Lactuca sativa*, *Senecio vulg.* und *erucaefolius*, *Lapsana communis*, *Sonchus oleraceus*, *Dactylis glomerata*, *Plantago major*, *Mentha piperita*, *Thymus serpyllum*, *Echium vulgare*, *Menispermum canadense*, *Magnolia obovata*, *discolor*, *Yulan*, *glauca* ......, *Syringa vulgaris*, *Hedera Helix* und viele Andere liefern wässerige Auszüge, welche durch angesäuerten Jodkalium-Stärkekleister sofort mehr oder weniger stark gebläut werden.“

Der Saft zahlreicher anderer Gewächse erhält nach Schönbein erst nach längerem Stehen an der Luft (12 bis 24 Stunden) das Vermögen, Jodkalium-Stärkekleister zu bläuen (Blätter von *Spinacia oleracea*, *Datura Strammonium*, *Hyoscyamus niger*, *Conium maculatum* etc.), während wiederum der Saft anderer Pflanzen, welchem Bläuungsvermögen von Anfang an zukömmt,

---

[1] Über das Vorkommen salpetricht- und salpetersaurer Salze in der Pflanzenwelt. Münchener Sitzungsber. 1862, 2, S. 320 u. s. w

[2] l. c. S. 321.

diese Fähigkeit sehr bald, oft schon nach einigen Minuten verliert, um sie nach längerer Zeit wieder in erhöhtem Masse zu gewinnen.

In allen diesen Fällen sollte — so dachte ursprünglich der genannte Forscher — die Bläuung durch Nitrite bewirkt werden, mithin salpetrige Säure im Pflanzenreiche weit verbreitet sein. Wenn Schönbein später auf Grund von ihm selbst aufgefundener Thatsachen diese seine Ansicht vollständig fallen liess und die bläuende Wirkung obiger Pflanzensäfte auf das Vorhandensein von erregtem Sauerstoff zurückführt,[1] so kann ich nach meinen Erfahrungen dem nur beistimmen. Bevor ich überhaupt bei meinen Literaturstudien auf jene Abhandlung kam, in welcher Schönbein seine ursprünglichen Behauptungen über das Vorkommen salpetriger Säure in der Pflanze widerruft, hatte ich bereits folgende Einwände gegen seine erste Auffassung geltend zu machen vermocht:

1. Bläuen abgesehen von Nitriten noch zahlreiche andere oxydirende Substanzen, Jodkalium-Stärkekleister. Mit Rücksicht auf unseren Fall ist vor Allem zu betonen, dass die Bläuung ebenso gut von activem Sauerstoff herrühren kann, dessen Vorkommen in der Pflanze nach den Untersuchungen von Schönbein[2] selbst, ferner von Traube,[3] Hoppe-Seyler[4] und Reinke[5] bewiesen ist.

2. Spricht der rasche Verlust des Bläuungsvermögens gegen das Vorhandensein salpetrigsaurer Salze, wie aus nachstehendem Versuche hervorgeht. Frisch, aus Blättern von *Cineraria maritima* bereitetes Extract, welches Jodkalium-Stärkekleister bis zur Undurchsichtigkeit sofort bläute, wurde in zwei Theile getheilt. Der eine wurde mit einer Spur einer 0·05 % Kaliumnitritlösung, welche eben zur Bläuung des Jodkalium-Stärkekleisters ausreichen würde, versetzt, der andere wurde ohne derartigen Zusatz

---

[1] Über das Vorkommen des thätigen Sauerstoffs in organischen Materien. Journal f. prakt. Chemie, Leipzig 1868, S. 206 u. s. w.

[2] l. c. Vergl. ferner die Abhandlung: Über einige chemische Eigenschaften der Pflanzensamen, ebenda, S. 214 u. s. w.

[3] Theorie der Fermentwirkungen, Berlin 1858.

[4] Physiolog. Chemie, Bd. IV, S. 838 u. s. w.

[5] Die Autoxydation in der lebenden Pflanzenzelle. Bot. Ztg. 1883, S. 65 u. s. w.

daneben aufgestellt. Noch nach drei Tagen liess sich die zugesetzte Menge von Nitrit mit Jodkalium-Stärkekleister nachweisen, während die nicht mit Nitrit versetzte Probe schon nach einer Viertelstunde ihr Bläuungsvermögen eingebüsst hatte. Würde Schönbein's ältere Ansicht, die Pflanzenauszüge verlören deshalb ihre Bläuungsfähigkeit, weil die darin vorhandenen Nitrite in kurzer Zeit reducirt würden, richtig sein, dann wäre es nicht gut begreiflich, warum sich absichtlich zugesetzte Spuren von Nitriten verhältnissmässig so lange in den Extracten halten sollten.

3. Ergaben unsere feinsten Reactionen auf Nitrite bei allen etwa 100 darauf geprüften, sowohl kryptogamen, als phanerogamen Pflanzen, darunter auch viele, welche Jodkalium-Stärkekleister auf's Intensivste bläuten, ein negatives Resultat. Es wurden die drei besten Reactionen auf salpetrige Säure, welche die heutige Chemie kennt, zur Prüfung herangezogen, ohne in irgend einem der gewonnenen Pflanzensäfte auch nur die leiseste Spur eines Nitrits auffinden zu können.

Ich benützte die Reaction von A. Jorissen,[1] ferner die beiden ausgezeichneten Proben von P. Griess mit Metadiamidobenzol[2] und Sulfanilsäure-Naphtylamin. Bei meinen Versuchen

---

[1] Vgl. Fresenius, Zeitsch. f. analyt. Chemie, 21. Bd., S. 210. Nitritlösungen rufen, mit einer Fuchsinlösung in Eisessig (0·01 Grm. Fuchsin in 100 CC. Eisessig) versetzt, eine Farbenwandlung hervor von roth zu violett, blau und gelb, welch letztere Farbe bei Zusatz von Wasser im Wesentlichen unverändert bleibt.

[2] Berichte d. deutsch. chem. Ges. XI., pag. 624. Salpetrige Säure gibt sich mit Metadiamidobenzol, das in verdünnter Schwefelsäure gelöst zugesetzt wird, durch Gelbfärbung zu erkennen. Nach Griess kann noch $\frac{1}{10}$ Mgr. im Liter und noch weniger salpetrige Säure erkannt werden. Für phytomikrochemische Zwecke eignen sich diese sowie auch die beiden anderen Proben nicht, da die bei der Reaction auftretenden Färbungen, obwohl in der Eprouvette selbst bei geringen Mengen sehr deutlich, unter Mikroskop zu wenig intensiv sind.

Bei meinen Versuchen, das Metadiamidobenzol auch direct unterm Mikroskop zu erproben, machte ich eine Beobachtung, die nicht ohne Interesse ist. Ich fand, dass alle verholzten Zellwände sich damit schön dottergelb färbten; eigens in dieser Richtung angestellte Untersuchungen machten es gewiss, dass Metadiamidobenzol thatsächlich die

leistete mir gerade die letzte Reaction, häufig combinirt mit der Schönbein'schen Jodkalium-Kleisterreaction, vortreffliche Dienste.[1]

4. Ist das Vorkommen von Nitriten schon deshalb sehr unwahrscheinlich, weil dieselben, wie ich ausführlich nachweisen werde, gleich nach ihrer Aufnahme durch die Pflanze im Gegensatze zu den Nitraten mit auffallender Schnelligkeit zerstört werden.

Fassen wir das Gesagte zusammen, so ergibt sich, dass bisher in keiner einzigen Pflanze salpetrige Säure (Nitrite) aufgefunden werden konnte und dass dieser Befund vorläufig in der merkwürdigen Fähigkeit der Pflanze, die Nitrite bei der Aufnahme sofort zu verändern, seine Erklärung findet.

Als weitere Consequenz dieser Thatsachen ergibt sich aber ferner, dass, wenn bei Behandlung eines Pflanzenschnittes mit Diphenylamin eine Blaufärbung eintritt, diese nicht von Nitriten, sondern bloss von Nitraten herrührt.

Bevor ich dieses Capitel schliesse, will ich noch einige Beobachtungen mittheilen, die für die Kenntniss von der Vertheilung sauerstofferregender und gleichzeitig Jodkaliumkleister bläuender Substanzen von Interesse sind. Bisher hatte man gewöhnlich ganze Pflanzen oder ganze Theile derselben mit Wasser verrieben und das filtrirte Extract mit Jodkaliumkleister zusammengebracht. Trat Bläuung ein, so schloss man auf das Vorhandensein von

---

geringsten Spuren von Holzstoff (Lignin) und zwar durch Gelbfärbung anzeigt, ähnlich dem von Wiesner vor längerer Zeit eingeführten Anilinsulfat. Metadiamidobenzol leistet als Holzstoffreagens in fünfpercentiger wässeriger Lösung die besten Dienste.

[1] Über diese Reaction von Griess vergl. Fresenius, Zeitschr. f. analytische Chemie 18, 1879, pag. 597. Versetzt man eine Flüssigkeit, welche nur eine Spur salpetriger Säure enthält, nachdem man sie mit reiner $SO_4H_2$ angesäuert, mit etwas Sulfanilsäurelösung und nach etwa 10 Minuten mit einigen Tropfen einer durch Thierkohle entfärbten schwefelsauren Naphtylaminlösung, so tritt je nach der vorhandenen Menge entweder schon nach wenigen Augenblicken oder erst nach längerer Zeit, oft erst nach mehreren Stunden eine schön rothe Färbung auf. Diese schöne und ausserordentlich empfindliche Reaction wird durch organische Substanz nicht behindert.

Sauerstoff erregenden Substanzen, ob dieselben in dem betreffenden Organe gleichmässig vertheilt sind oder nicht, blieb vorderhand unbeantwortet.

Ungemein lehrreich erscheint gerade mit Rücksicht auf den letzteren fraglichen Punkt die ruhende Kartoffelknolle. Hier sind nämlich jene Substanzen, welche Jodkaliumkleister zu bläuen vermögen, auf eine ganz bestimmte Zone und zwar auf das knapp unter der Schale liegende Phellogen und die darangrenzende Krystalloide führende Schicht beschränkt.

Ein parallel zur Oberfläche erzeugter und die beiden eben genannten Gewebelagen enthaltender Schnitt färbt sich mit Jodkaliumkleister fast momentan, bei manchen Kartoffelsorten erst nach einigen Minuten blau, während ein aus tieferen Partien der Knolle stammender Schnitt in gleicher Weise behandelt, farblos bleibt.[1]

Dass die Kleister bläuenden Stoffe nur unterhalb der Schale, auf eine verhältnissmässig dünne Zone beschränkt, vorkommen, kann auch leicht gezeigt werden, wenn man die Schale so dünn als möglich abträgt, mit wenig Wasser verreibt und das Ganze filtrirt. Ein solcher Auszug bläut nach kurzer Zeit Jodkaliumkleister auf's Intensivste. Dagegen vermögen Auszüge aus dem inneren Kartoffelparenchym nicht nur Jodkaliumkleister nicht zu bläuen, sondern die Bläuungsfähigkeit des Schalenextractes sogar zu vernichten, was um so auffallender ist, als in der ganzen Kartoffelknolle, wie aus der Bläuung mit Guajakemulsion hervorgeht, Sauerstofferreger vorkommen. Im Inneren der Knolle scheinen aber gleichzeitig Körper anwesend zu sein, welche die Reaction des Phellogens auf Jodkaliumkleister behindern.

Warum gerade die Phellogenschicht und ihre unmittelbare Umgebung verhältnissmässig so stark oxydirend wirkt, ob deshalb, weil activer Sauerstoff hier in bedeutender Menge oder weil er in besonderer Form auftritt oder aus anderen Gründen, wage ich nicht zu entscheiden. Davon aber, dass das Korkkambium der Kartoffelknolle in Contact mit atmosphärischer Luft Sauerstoff in erregter Form enthält und auffallend stärker

[1] Eine Ausnahme machen im Innern vorkommende Fäulnissherde. Diese bläuen sich gleichfalls intensiv.

oxydirend wirkt als das tiefer liegende Gewebe, davon kann man sich leicht mit Hilfe des neuen Wurster'schen[1] Reagenspapieres überzeugen.

Der genannte Autor machte vor Kurzem die Chemiker und Physiologen mit einigen neuen empfindlichen Reagentien zum Nachweis minimaler Mengen activen Sauerstoffs bekannt, von welchen bereits das Tetramethylparaphenylendiamin in Form von Reagenspapieren im Handel ist. Die Papiere sind weiss und färben sich im Contact mit activem Sauerstoff sofort blau, um sich bei weiterer Oxydation wieder zu entfärben. Legt man nun ein solches Papier so zwischen die beiden Hälften einer eben aufgeschnittenen Knolle, dass das eine Ende tief im Innern liegt, das andere aber über die Schale hervorragt, so entsteht bei Druck genau da, wo das Korkkambium liegt, ein tiefblauer Streifen, während sich das Innenparenchym erst viel später färbt.

Bei Kartoffeltrieben vermag nur die unterhalb der Vegetationsspitze liegende, aus sich theilenden oder noch streckenden Zellen bestehende Zone Jodkaliumkleister zu bläuen, die älteren ausgewachsenen Internodien jedoch nicht.

Bei Hypocotylen von *Helianthus annuus* haben — und dies gilt auch für viele andere Pflanzen — die Kleister bläuenden Sauerstofferreger vornehmlich in der Epidermis und deren unmittelbarer Umgebung ihren Sitz.

Im Gegensatze zu den Kartoffeltrieben tritt jedoch bei den basalen Stengeltheilen von *Helianthus*-Keimlingen die Bläuung deutlicher ein als bei den oberen. Wurster's Papier gibt, sobald man den Sonnenblumenstengel mit einer frisch gemachten Querfläche sanft aufdrückt, ein eigenthümliches, ich möchte sagen, anatomisches Bild: Epidermis und Gefässbündelkreis rufen blaue Ringe hervor, während Mark und innere Rinde sich auffallend weniger färben. Ähnliche Versuche mit Keimlingsstengeln von *Phaseolus multiflorus*, *Vicia sativa*, *Curcurbita Pepo* und *Zea Mais* durchgeführt, ergaben, dass die genannten Pflanzen Kleister bläuende Stoffe nicht enthalten, Wurster's Papier viel weniger bläuen als *Helianthus*, dagegen Guajakemulsion durchwegs bläuen.

[1] Berichte der deutsch. chem. Ges. 19. Jg. Berlin 1886, S. 3195. Über einige empfindliche Reagentien zum Nachweise minimaler Mengen activen Sauerstoffs.

Es liegt nicht im Plane meiner Arbeit, auf das mehr minder localisirte Auftreten von Substanzen, welche Jodkaliumkleister bläuen, näher einzugehen. Allein die vorangehenden Beobachtungen glaubte ich nicht verschweigen zu sollen, da sie eine neue Thatsache zu Tage förderten und gleichzeitig anzeigen, in welchen Organtheilen oder Geweben Oxydations-, beziehungsweise Reductionsprocesse besonders energisch verlaufen.

## II.

## Über die auffallend rasche Veränderung von Nitriten innerhalb der Pflanze.

Es ist hinlänglich bekannt, dass im Boden neben Nitraten und Ammoniaksalzen auch häufig Nitrite vorkommen und dass alle diese Salze je nach den im Boden herrschenden Bedingungen ineinander übergehen können: bei mangelhaftem Sauerstoffzutritt kann Salpetersäure bis zu Ammoniak reducirt, bei reichlichem Sauerstoffzufluss dagegen wieder Ammoniak bis zu Salpetersäure oxydirt werden. Bei den beständigen Wandlungen der anorganischen Stickstoffsalze des Bodens wird die Pflanze zweifelsohne oft in die Lage kommen, Nitrite aufnehmen zu können. Was geschieht nun mit diesen Nitriten, werden dieselben in der Pflanze zu Nitrat oxydirt oder werden sie reducirt? Über diese Fragen sind bisher keine Untersuchungen angestellt worden, das Wenige, was sich darüber in der Literatur vorfand, betrifft lediglich Vermuthungen, die sich als unrichtig herausstellen werden.

Nach einem in Liebig's Agriculturchemie[1] mitgetheilten Versuch von Goppelsröder könnte man auf den Gedanken kommen, dass die von der Pflanze aufgenommenen Nitrite innerhalb derselben eine Umwandlung in Nitrate erleiden. Goppelsröder begoss nämlich eine in nitratfreier Erde wachsende Runkelrübe von Zeit zu Zeit mit einer schwachen Lösung von salpetrigsaurem Kali, fand jedoch im Rübensafte immer nur Nitrate. Auf den ersten Blick scheint der erwähnte Versuch sehr für eine Oxydation der Nitrite in der Pflanze zu sprechen, allein wenn man bedenkt, wie rasch oft im Boden ein Umsatz von salpetriger- zu Salpetersäure erfolgt, so ist klar, dass die Runkel-

[1] 9. Aufl. 1876, pag. 65.

rübe, obwohl nur mit Nitriten begossen, doch Nitrate vorgefunden haben könnte.

Soll daher die erste Veränderung der Nitrite bei ihrem Eintritt in die Pflanze constatirt werden, dann darf ihr der Stickstoff während der ganzen Dauer des Versuches eben nur in Form salpetrigsaurer Salze geboten werden, eine Bedingung, die bei Cultur in Erde nicht realisirbar ist. Ich dachte ursprünglich, derartige Versuche in Nährstofflösungen durchführen zu können, allein auch hier stiess ich auf eine fast unvermeidliche Schwierigkeit: die von den Wurzelhauben abgestossenen Zellen locken nämlich sehr bald Bakterien an, unter deren Einfluss Fäulniss und in weiterer Folge Nitrate entstehen können. Wenn auch nur Spuren davon vorhanden sind, bemächtigt sich doch die Pflanze ihrer ausserordentlich rasch, und so kommt es, dass auch hier wieder salpetersaure Salze in der Pflanze gefunden werden, ohne dass sie jedoch innerhalb derselben entstanden zu sein brauchen.

Die Resultate, die ich bei derartigen Culturen[1] in Nitritlösungen erhielt, stimmten durchwegs in dem einen Punkte überein, dass die Versuchspflanzen (*Phaseolus multiflorus*, *Vicia sativa*, *Helianthus annuus*, *Zea Mais*, *Hordeum vulgare* und *Cucurbita Pepo*) niemals Nitrite, auch nicht in den geringsten Spuren enthielten. Verschieden waren jedoch die Resultate darin, dass unter zahlreichen Versuchspflanzen einzelne kleine Mengen von Nitrat führten, was jedoch, wie durch nachstehende, nach anderer Methode ausgeführte Versuche näher begründet werden wird, nicht etwa auf eine Oxydation der Nitrite innerhalb der Pflanze zurückgeführt werden darf, sondern auf die Aufnahme von Nitraten, die in der Nährlösung in Folge der oben angedeuteten Einflüsse erst entstanden sind.

Bevor ich zu meinen weiteren Versuchen übergehe, sei noch auf eine, nicht uninteressante Erscheinung hingewiesen, die ich bei der Cultur von Keimpflanzen in Nitritlösungen oft zu beobachten Gelegenheit hatte. Es zeigte sich hiebei, dass bereits verhältnissmässig verdünnte Lösungen von salpetrigsaurem Kali

---

[1] Die Culturbedingungen waren abgesehen von der Nährlösung ebenso wie bei den auf S. 240 mitgetheilten Versuchen.

(0·1 —0·05 %) auf verschiedene Pflanzen giftig wirken. Bohnen- Sonnenblumen- und Maiswurzeln sterben in derartigen Lösungen entweder vollständig ab, oder sie wachsen mindestens sehr langsam. Diese Thatsache erscheint um so auffallender, weil die Pflanze Nitrate in solcher und auch noch höherer Concentration ganz gut verträgt, wie beispielsweise Culturen in Knop'schen Nährstofflösungen beweisen, die ja 0·125 % Salpeter enthalten.

Die schädliche Wirkung verhältnissmässig verdünnter Nitritlösungen erkannten bereits Birner und Lucanus,[1] als sie Haferpflanzen in Lösungen von 0·132 % zogen. Nach meinen Beobachtungen wirken jedoch schon bedeutend verdünntere Lösungen (0·1—0·01 %) wachsthumhemmend. Bietet man hingegen verschiedenen Keimpflanzen Nitrit in sehr geringen Mengen, etwa in Lösungen, welche nur 0·005—0·002 % $KNO_2$ enthalten, so gedeihen sie wochenlang ganz gut, die Wurzeln bleiben gesund und bilden reich verzweigte Wurzelnetze.

Schon oben wurde betont, dass bei der Entscheidung der Frage, welche Veränderung Nitrite innerhalb der Pflanze erleiden, in erster Linie darauf geachtet werden muss, dass während der ganzen Dauer des Versuchs der Pflanze nur Nitrite geboten werden.

Diese Bedingung zu erfüllen ist bei Culturen in Erde unmöglich, bei Culturen in Nährlösungen, selbst bei häufigem Wechsel derselben, aus bereits mitgetheilten Gründen schwer möglich. Ich schlug daher einen anderen sehr einfachen Weg ein. Ich tauchte Keimlingswurzeln bis zum Wurzelhalse auf wenige Augenblicke in verdünnte Kaliumnitritlösungen (0·1 %—0·05 %) und cultivirte sie sodann im dunstgesättigten Raume weiter. Beim Herausziehen einer Wurzel aus einer solchen Lösung adhärirt ziemlich viel Nitrit an der Oberfläche, wovon man sich leicht durch Eintauchen der Wurzel in angesäuerten Jodkalium-Stärkekleister überzeugen kann. Sie wird hiebei momentan tief indigoblau. Eine derartige Bläuung unterbleibt jedoch vollständig, nachdem die Wurzel 8 bis 24 Stunden im feuchten Raume verweilt hatte; nach dieser Zeit ist weder an der Oberfläche, noch

---

[1] Wasserculturversuche mit Hafer. In den landwirthschaftlichen Versuchsstationen Bd. 8, Jahrg. 1866, S. 128 u. s. w.

im Inneren der Wurzel, noch in den anderen Organen der Pflanze eine Spur von Nitrit nachzuweisen. Aber auch nach Nitrat sucht man vergebens. Daraus geht aber hervor, dass Nitrite durch die Wurzel rasch zerstört, hiebei aber nicht oxydirt, sondern reducirt werden. Zur Stütze des Gesagten sei folgende Versuchsreihe hier mitgetheilt.

Je zehn Keimlinge von *Phaseolus multiflorus*, *Vicia sativa* und *Zea Mais*, deren Wurzeln eine durchschnittliehe Länge von 3 bis 5 Ctm. besassen und sich bisher auf feuchtem Papier entwickelt hatten, wurden in der oben angegebenen Weise mit ihren Wurzeln in eine 0·5 % Kaliumnitritlösung getaucht und hierauf im feuchten Raume aufgehängt weiter cultivirt. Nach 14 Stunden war bei 26 Wurzeln nach Ausweis der Jodkalium-Stärkekleister- und der Griess'schen Reaction alles Nitrit verschwunden, bei den vier übrigen aber nur mehr in Spuren vorhanden.

Wesentlich dieselben Resultate erhielt ich bei Wurzeln von *Hordeum vulgare* und *Cucurbita Pepo*. Auch durch siedendes Wasser getödtete Wurzeln zerstören in gleicher Weise, wenn auch etwas weniger rasch, Nitrite, während mit Nitriten imbibirte Filterpapierstreifen oder Baumwollfäden viele Tage, oft Wochen lang eine derartige Zerstörung nicht vollbringen.

Versuche, welche mit Mais bei verschiedenen Temperaturen (1—6° C.) und (18—22° C.) durchgeführt wurden, lehrten, dass die Reduction auch bei ziemlich niederer Temperatur, hier jedoch etwas langsamer stattfindet.

Gegen den vorhin gezogenen Schluss, es werden Nitrite durch die Wurzel zerstört und hiebei reducirt, könnte vielleicht der Einwand erhoben werden, dass möglicherweise nicht eine Reduction sondern eine Oxydation der Nitrite erfolge, dass jedoch die Nitrate nur deshalb nicht nachgewiesen werden können, weil sie sofort assimilirt werden.

Ein solcher Einwand wäre nur dann berechtigt, wenn thatsächlich ein auffallend rasches Verschwinden von salpetersauren Salzen in der Pflanze zu constatiren wäre. Dies ist aber durchaus nicht der Fall, im Gegentheile, ich werde sogleich zeigen, dass gerade Nitrate im grellen Gegensatze zu Nitriten sich in der Pflanze verhältnissmässig auffallend lange Zeit als solche erhalten.

Taucht man verschiedene Keimlingswurzeln in der kurz vorhin besprochenen Weise in eine wässerige 0·1procentige Lösung von Kaliumnitrit, eine andere Partie davon in eine Kalisalpeterlösung derselben Concentration und cultivirt sodann beide unter ganz gleichen Bedingungen in feuchter Luft weiter, so kann man sich leicht überzeugen, dass alles Nitrit innerhalb 24 Stunden verschwindet, der Salpeter dagegen noch nach 3 bis 7 Tagen, mitunter noch länger in der Wurzel vorhanden ist. Obwohl also nur eine Spur von Salpeter der Wurzel geboten wurde, so erhielt sich derselbe doch gegen alle Erwartung auffallend lange, was offenbar gegen den erhobenen Einwand spricht.

Im Anschlusse hieran seien noch einige Versuche mitgetheilt, welche gleichfalls für den langen Bestand salpetersaurer Salze innerhalb der Pflanze sprechen.

Bohnen- und Maiskeimlinge wurden von Anfang her durch 12 Tage in Knop'scher Nährstofflösung, von starkem diffusen Licht bestrahlt, gezogen, bis sie recht viel von Salpeter gespeichert hatten. Hierauf zog ich die Keimlinge, nachdem ihre Wurzeln mit destillirtem Wasser sauber abgespült worden waren, in eben solchem Wasser weiter und zwar eine Partie im Lichte, eine andere im Finstern. Von Zeit zu Zeit wurden nun Stengel und Blattstiele auf Salpeter geprüft.

Nach 20 Tagen, während welcher die Keimlinge bedeutend gewachsen waren, fand sich bei den Licht- wie bei den Finsterpflanzen Salpeter noch in Menge vor, bei den letzteren jedoch, nach der Intensität der Reaction mit Diphenylamin zu schliessen, mehr als bei den ersteren. Wesentlich dasselbe zeigte sich nach 30 Tagen, nur war der angedeutete Unterschied zwischen den Pflanzen im Lichte und den im Finstern etwas auffallender; offenbar ein Beweis, dass die Assimilation des Salpeters durch das Licht begünstigt wird.

Abgeschnittene und mit ihren Schnittflächen in destillirtem Wasser eingestellte salpeterreiche Zweige von *Tradescantia* sp., *Goldfussia isophylla*, *Eupatorium adenophorum* Sprgl. *Boehmeria polystachya*, *Hedera Helix* und *Selaginella Martensii* verbrauchen gleichfalls sowohl im Lichte als im Finstern ungemein langsam den aufgespeicherten Salpeter. Trotzdem sich viele der Zweige bewurzeln und nicht unbedeutend wachsen, bleibt Salpeter noch

nach 1 bis 2 Monaten nachweisbar. Dies ist nur durch den langsamen Verbrauch des bereits in den Zweigen vorhandenen Salpeters und nicht etwa durch eine innerhalb derselben erfolgende Neubildung von Nitrat zu erklären, da, wie in einem besonderen Capitel noch näher auseinandergesetzt werden soll, eine Entstehung von Nitraten in der Pflanze nicht vorkömmt.

Ich kehre nun wieder zur Zerstörung der Nitriten durch die Pflanze zurück und gehe an die Schilderung anderer neuer Versuche, welche die reducirende Wirkung der Pflanze auf Nitrite ebenfalls deutlich demonstriren.

In kleine Bechergläser, welche etwa 20—30 CC. einer 0·002% Kaliumnitritlösung enthielten, wurden drei Wochen alte, im Brunnenwasser erwachsene Bohnenkeimlinge *(Phaseolus multiflorus)* mit ihren, in destillirtem Wasser gut abgespülten Wurzeln eingesenkt. In jedes Becherglas kam eine Bohne mit reich entwickeltem Wurzelnetz. Je verzweigter das letztere ist und je geringer die vorhandene Menge der Nitritlösung, desto besser gelingt der Versuch. Die Experimente verliefen im Lichte bei einer Temperatur von 18—22° C. Zur Controle wurde eine Nitritlösung derselben Concentration ohne Bohne aufgestellt. Von Zeit zu Zeit wurde nun mit angesäuertem Jodkaliumkleister und der Griess'schen Reaction anf Nitrit geprüft, wobei sich zeigte, dass nach 5 Stunden bei einzelnen und nach 20 Stunden bei allen alles Nitrit aus der Lösung verschwunden und auch in den Bohnen nicht nachweisbar war.

Die Controllösung aber gab wunderschöne Nitritreaction. Die Zerstörung der Nitrite ist, wie man sich durch ganz analoge Versuche mit salpeterfreien[1] Bohnen- und Maiskeimlingen überzeugen kann, auch hier nicht mit einer Entstehung von Nitraten verknüpft. Die Nitrite werden mithin nicht oxydirt, sondern reducirt.

Die Reduction der Nitrite ist nicht etwa einer specifischen Eigenschaft der Wurzelzellen zuzuschreiben, sondern scheint allen lebenden Parenchymzellen überhaupt zuzukommen. Dies lehren Versuche mit abgeschnittenen Zweigen. Krautige Sprosse

---

[1] Derartige Keimlinge erhält man, indem man dieselben von Anfang an in destillirtem Wasser zieht.

z. B. von *Phaseolus multiflorus, Cucurbita Pepo, Plectranthus fruticosus, Eupatorium adenophorum* Sprgl., Blätter von *Primula chinensis, Piper macrophyllum* und *Pelargonium zonale* zerstören, wofern sie mit ihren Schnittflächen in eine 0·01 procentige Kaliumnitritlösung gestellt und darinnen Tage oder eine Woche lang belassen werden, alles aufgenommene Nitrit. Selbst knapp oberhalb der Schnittfläche sucht man vergebens darnach. Nicht so bei Holzzweigen (*Pinus Laricio* Poir., *Abies pectinata* DC., *Taxus baccata, Laurus nobilis, Syringa vulgaris*). Hier steigen salpetrigsaure Salze oft zu bedeutenderen Höhen (1—40 Ctm.) auf, offenbar weil der wohl ausgebildete Holzkörper eine rasche Saftleitung bedingt und den Elementen desselben in Folge von Protoplasmamangel das Reductionsvermögen für Nitrite anscheinend nur in sehr geringem Grade zukommt. Solche Bedingungen, wie sie in den eben geschilderten Experimenten mit Holzzweigen realisirt waren und unter welchen thatsächlich Nitrite einige Zeit sich in der Pflanze erhalten können, kommen jedoch unter normalen Verhältnissen nicht vor. Für gewöhnlich werden die salpetrigsauren Salze in sehr verdünnten Lösungen in die Wurzelrinde eintreten und hier beim Zusammentreffen mit leicht oxydablen Körpern der Reduction verfallen, bevor sie vielleicht den Holzkörper erreicht.

## III.

### Woher stammen die Nitrate der Pflanze? Stammen sie von aussen oder können sie auch in der Pflanze entstehen?

Bei ihren ausgedehnten Untersuchungen über die Verbreitung des Salpeters im Pflanzenreiche suchten Berthelot und André[1] auch die Frage zu lösen, woher der Salpeter, der in vielen Pflanzen in so auffallender Menge auftritt, herrührt. Um darüber ins Klare zu kommen, bestimmten die genannten Autoren die Salpetermenge der auf einer bekannten Fläche cultivirten Pflanzen, ferner die des dazugehörigen Culturbodens und verglichen beide Mengen unter Berücksichtigung der im Dünger enthaltenen und durch die Atmosphäre zugeführten Salpetersäure.

[1] l. c. T. 99, p. 683.

Sie fanden pro 25 Quadratmeter folgende Salpetermengen in den Pflanzen:

| | | |
|---|---|---|
| In *Borago officinalis* | . . . . . . . . . . | 120 Kg. |
| „ *Amarantus bicolor* | . . . . . . . . . . | 128 „ |
| „ „ *caudatus* | . . . . . . . . . . | 140 „ |
| „ „ *pyramidalis* | . . . . . . . . | 163 „ |
| „ „ *giganteus* | . . . . . . . . . | 320 „ |

Da der Dünger des betreffenden Culturbodens nur wenig Salpeter enthielt, da überdies der Boden bis zu einer Tiefe von 0·325 Mtr. nur ungefähr die Hälfte des in den Boragopflanzen und gar nur $^1/_6$ des in *Amarantus giganteus* vorkommenden Salpeters ausmachte, so gelangen die beiden Autoren unter schliesslicher Berücksichtigung der Annahme, dass die aus der Atmosphäre in den Boden tretende Menge von Salpetersäure nur eine geringe sein kann (etwa 4·40 Kg. pro Hektar), zu dem Schlusse, dass der Salpeter zum grössten Theile an Ort und Stelle, das heisst, in der Pflanze entstehe und dass die Salpeterbildung durch bestimmte Zellen vermittelt werde.

Wie wenig berechtigt ein derartiger Schluss ist, liegt klar auf der Hand. Die zur Zeit der Bodenanalyse gerade vorhandene Menge salpetersaurer Salze darf doch nicht als Ausgangspunkt der Berechnung genommen werden, da ja der von der Pflanze aufgenommene Salpeter in Folge der nitrificirenden Thätigkeit des Bodens auf die stickstoffhältigen Zersetzungsproducte des Düngers allmälig wieder restituirt wird. Wenn also in der Pflanze schliesslich mehr Salpeter ist als ausserhalb derselben, so darf dies nicht im mindesten Wunder nehmen — der Salpeter wurde eben gespeichert, wie dies mit vielen anderen Stoffen gleichfalls geschieht. Ich erinnere nur an das Jod des Meerwassers. In minimalen Mengen hier vorhanden (kaum 1 Milliontheil in einem Gewichtstheil Wasser) wird dasselbe in verschiedenen Tangen doch in so grossen Quantitäten vorgefunden, dass sich die Gewinnung desselben aus diesen Gewächsen verlohnt. Niemand wird behaupten wollen, das Jod sei, weil es sich in den Tangen in grösserer Menge vorfindet, als im Meerwasser, erst in den Pflanzen entstanden. Was vom Jod gesagt wurde, gilt auch vom Phosphor, dem Kalium u. s. w.

Wenngleich demnach die Schlussfolgerung der genannten Autoren als unberechtigt bezeichnet werden muss, so darf doch nicht geleugnet werden, dass möglicherweise in der Pflanze, sei es durch Spaltung complicirter Stickstoffverbindungen (Eiweisskörpern und deren Abkömmlingen), sei es durch Oxydation von Ammoniak Nitrat entstehen könnte. Eine experimentelle Prüfung des angedeuteten Gegenstandes scheint mir für die Lehre der Stoffwandlungen in der Pflanze von grosser Wichtigkeit.

In allen meinen diesbezüglichen Versuchen wurde den Pflanzen keine Spur eines Nitrats geboten. Ich cultivirte Pflanzen 1. im destillirten Wasser, 2. im ammoniakhältigen Wasser und 3. in einer completen, aber nitratfreien Nährstofflösung.

Versuche im destillirten Wasser. Keimlinge der verschiedensten Pflanzen (*Zea Mais, Phaseolus multiflorus, Pisum sativum, Cucurbita Pepo, Vicia sativa, Hordeum vulgare*), welche auf einer mit feuchtem Filterpapier belegten Thonschale auskeimten, wurden, nachdem ihre Wurzeln eine durchschnittliche Länge von 2—4 Ctm. erreicht hatten, in mit destillirtem Wasser gefüllten Glasgefässen, starkem diffusen Licht ausgesetzt, weitercultivirt. Über die beschickten Gefässe wurden grosse Glasglocken gestülpt, um atmosphärischen Staub, durch welchen leicht Spuren von Nitraten zu den Keimlingen gelangen konnten, möglichst abzuhalten. Der Abschluss von der atmosphärischen Luft war jedoch absichtlich ein sehr unvollkommener, so dass die Pflanzen auch ziemlich energisch transpiriren konnten. Von Tag zu Tag wurde das Wasser gewechselt, wodurch Fäulnissprocesse so gut wie verhindert waren, und einzelne Keimlinge theils mikroscopisch, theils makroscopisch auf Nitrate und nebenbei auch auf Nitrite geprüft. Das Resultat war bei allen Pflanzen ein negatives.[1] Die Versuche dauerten in der Regel zwei, längstens drei Wochen und mussten dann eingestellt werden, weil die Pflanzen aus Nährstoffmangel zu Grunde gingen.

---

[1] Nur dann, wenn das Wasser nicht oft gewechselt wird und die Wurzeln aus irgend welchen Gründen absterben, fand ich zuweilen Spuren von Nitraten. Offenbar sind dieselben aus den Eiweisskörpern und anderen stickstoffhältigen organischen Substanzen faulender Zellen unter dem Einflusse von Bacterien entstanden und sodann von der Pflanze aufgenommen worden.

In vollständiger Übereinstimmung hiemit stehen Versuche, die mit austreibenden Kartoffelknollen angestellt wurden. Lässt man eine Partie davon im feuchten Raume auskeimen, wo sie von Zeit zu Zeit nur mit destillirtem Wasser besprengt werden, eine andere Partie in salpeterhältiger Erde, so wird man in den ersteren vergebens nach Nitraten suchen, nicht aber in den letzteren, da hier Nitrate alsbald in grösserer Menge gespeichert werden.[1]

Versuche mit Ammoniaksalzen. Ich operirte mit folgenden Lösungen:

1. Die Lösungen enthielten in 100 Theilen destillirten Wassers 0·05—0·01 Grm. kohlensaures Ammoniak;
2. die Lösungen enthielten in 100 Theilen destillirten Wassers 0·01 Grm. $ClNH_4$;
3. die Lösungen enthielten in 100 Theilen destillirten Wassers 0·01 Grm. $PO_4(NH_4)_3$.

Art der Versuchsanstellung und der Versuchspflanzen ganz wie vorher. Wachsthum der letzteren besser als im destillirten Wasser.

Bei den von Zeit zu Zeit — die Versuche dauerten 2—3 Wochen, während welcher die Lösungen jeden zweiten Tag gewechselt wurden — vorgenommenen Prüfungen konnten auch hier nicht die leisesten Spuren von Nitraten oder Nitriten nachgewiesen werden. Zu ganz denselben Ergebnissen gelangte ich auch, als ich Keimlinge in einer, analog der Knop'schen Nährlösung[2] zusammengesetzten Flüssigkeit zog, bei welcher jedoch der salpetersaure Kalk durch schwefelsauren Kalk und das salpetersaure Kali durch Chlorammonium ersetzt war. In einer solchen Lösung, die den Pflanzen die unumgänglich nothwendigen Grundstoffe, den Stickstoff aber nicht in Form eines Nitrats, sondern in Form des Chlorammoniums bot, zog ich wochenlang Keimlinge oben genannter Pflanzen, ohne jedoch während dieser Zeit Nitrate in denselben constatiren zu können.

Es ist bereits mehrfach die aus verschiedenen Gründen wirklich naheliegende Vermuthung ausgesprochen worden, dass

---

[1] Zu demselben Resultate gelangte ich bereits im Jahre 1883 (l. c. S. 153) bei Versuchen mit Kresse.

[2] Knop, Lehrbuch der Agriculturchemie, Leipzig 1868, S. 605 und 606.

möglicherweise Ammoniak in der Pflanze zu Nitriten, beziehungsweise Nitraten oxydirt werden könne.[1] Da in der Pflanze Oxydationsprocesse etwas ganz Gewöhnliches sind, hegte auch ich ursprünglich diese Vermuthung. Die vorhergehenden Versuche haben jedoch das übereinstimmende Resultat ergeben, dass Pflanzen, welche in nitrit- oder nitratfreien Lösungen gezogen werden, niemals dergleichen Salze enthalten und dass somit die Anschauung Berthelot's und André's, es werde für gewöhnlich Salpeter auch in der Pflanze[2] gebildet, nicht richtig sein kann. Kommt also Salpeter in einer Pflanze vor, so stammt derselbe von aussen und enthält die Pflanze mehr davon als ihr Substrat, auf dem sie gedeiht, so ist dieses Plus einfach durch Speicherung zu erklären. Die meisten Pflanzen müssen geradezu als Sammelapparate für Salpeter betrachtet werden und zwar in Folge ihrer merkwürdigen Fähigkeit, aus den verdünntesten Lösungen noch die geringsten Spuren von Salpeter an sich reissen und in unverändertem Zustande längere Zeit hindurch aufstapeln zu können.

## Die wichtigeren Ergebnisse.

1. Nitrate sind im Pflanzenreiche allgemein verbreitet; in krautigen Gewächsen findet sich gewöhnlich auffallend mehr davon vor als bei Holzgewächsen.

2. Nitrite konnten, trotzdem dieselben im Boden häufig vorkommen, in keiner einzigen der geprüften (etwa 100) Pflanzen aufgefunden werden. Die bisherigen Angaben über das angebliche Vorkommen von Nitriten in verschiedenen Gewächsen beruhen auf Täuschung und unrichtiger Interpretation.

Die Pflanze besitzt das Vermögen, Nitrite bei ihrer Aufnahme mit überraschender Schnelligkeit zu reduciren und dies

---

[1] Knop, Lehrbuch der Agriculturchemie, Leipzig 1868, S. 126.

[2] Eine Ausnahme davon dürften vielleicht die Spaltpilze machen, da denselben nach den Beobachtungen zahlreicher Forscher (Schlösing, Müntz u. s. w.) die Fähigkeit zukommen soll, Ammoniaksalze zu Nitriten, beziehungsweise zu Nitraten zu oxydiren. Frank dagegen bezweifelt dies und neigt zur Ansicht, dass die Nitrification des Ammoniaks in der Ackererde kein Fermentations-, sondern ein rein anorganischer Process sei. Berichte d. deutsch. bot. Ges. Jg. 1886, S. CVIII.

ist offenbar auch der Grund, warum man dieselben in der Pflanze stets vermisst. Nitrate können hingegen auffallend lange, Wochen, ja Monate lang innerhalb der Pflanzenzelle verweilen, bevor sie zerstört werden.

3. Nitrite wirken im Gegensatze zu den Nitraten schon in verhältnissmässig verdünnten Lösungen (0·1—0·01%) auf verschiedene Gewächse schädigend.

4. Pflanzen, denen der Stickstoff nicht in Form von Nitraten, sondern nur in Form von Nitriten oder Ammoniak geboten wird, enthalten niemals Nitrate. Daraus geht hervor, dass weder die salpetrige Säure noch das Ammoniak in der Pflanze eine Oxydation zu Salpetersäure erfahren.

Die Pflanze hat — vielleicht mit Ausnahme der Bacterien — entgegen der Ansicht von Berthelot und André nicht die Fähigkeit, aus Stickstoffverbindungen Nitrate zu erzeugen.[1] Alles Nitrat der Pflanze stammt von aussen und wenn sie mehr davon enthält als ihr Substrat, so ist der Überschuss einfach durch Speicherung zu erklären.

5. Diphenylamin, in Schwefelsäure gelöst, eignet sich vortrefflich zum Nachweis von Nitraten unterm Mikroscop. Es ist jedoch hiebei zu beachten, dass da, wo bei Einwirkung der Schwefelsäure rasch Huminkörper entstehen, wie dies bei verholzten Geweben (Holzzweigen) in besonderem Grade der Fall ist, die Reaction hiedurch mehr oder minder behindert wird.

6. Die Arbeit enthält ferner einige Beobachtungen über das localisirte Auftreten von solchen Substanzen, welche Guajakemulsion und gleichzeitig Jodkaliumstärkekleister bläuen.

---

[1] Nachträgliche Anmerkung des Verfassers. Kurze Zeit nach Veröffentlichung meiner Abhandlung erschien in den Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1887, Nr. 8, S. 1500 eine Arbeit von E. Schulze, in welcher der obige Satz durch Versuche mit Lupinenkeimlingen eine neue Stütze erhält.

---